

GTFCh-Reisestipendium zur TIAFT Conference 2025

Enantioselektive Wirkstoffanalytik in illegalen Handelsformen und Zubereitungen von Ketamin mittels Kapillarelektrophorese und Flüssigchromatographie mit UV-Detektion

Lesley Sartor^{1,2,*}, Lena Schulze³, Maximilian Greif¹, Nathalie Martin¹, Volker Auwärter², Michael Pütz¹

¹Bundeskriminalamt, Kriminaltechnisches Institut, KT45 - Toxikologie, Wiesbaden

²Institut für Rechtsmedizin des Universitätsklinikums Freiburg, Forensische Toxikologie

³Hochschule Hamm-Lippstadt, Hochschule für angewandte Wissenschaften, Hamm

*Korrespondierende Autorin: lesley.sartor@uniklinik-freiburg.de

1. Einleitung

Ketamin ist ein seit den 1960er-Jahren vertriebenes dissoziativ wirkendes Anästhetikum, das in der Veterinär- und Humanmedizin breite Anwendung findet, in letzter Zeit auch als Antidepressivum. [1,2] Parallel zur medizinischen Nutzung ist in den letzten Jahren weltweit ein deutlicher Anstieg des missbräuchlichen Konsums von Ketamin zu beobachten. [3,4] In diesem Zusammenhang haben Ketamin-Zubereitungen wie das sogenannte Pink cocaine, eine variabel zusammengesetzte Mischung verschiedener psychoaktiver Stoffe wobei häufig Ketamin und 3,4-Methylendioxy-*N*-methylamphetamin (MDMA) enthalten sind, an Bedeutung gewonnen. Oft können weitere psychoaktive Stoffe wie Coffein, Amphetamin, 2-CB oder synthetische Cathinone, teils sogar Sedativa wie Tramadol oder Benzodiazepine als Bestandteil solcher Zubereitungen identifiziert werden. [5,6] In der medizinischen Anwendung kommen sowohl racemisches Ketamin als auch enantiomerenreine (*S*)-Ketamin-Präparate zum Einsatz, die eine höhere anästhetische und analgetische Potenz aufweisen. [7] In der forensischen Chemie spielt die Enantiomerenanalytik chiraler synthetischer Drogen eine zentrale Rolle, da das Enantiomerenverhältnis wertvolle Informationen über Synthesewege, Aufreinigungsprozesse und mögliche Herkunftsquellen liefern kann. [8,9]

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, die stereochemische Zusammensetzung von sichergestelltem Ketamin in Reinform und in komplexen Zubereitungen wie Pink cocaine mittels chiraler Hochleistungsflüssigchromatographie (HPLC) und chiraler Kapillarelektrophorese (CE) in Kombination mit UV-Detektion zu untersuchen.

2. Material und Methoden

Alle verwendeten Chemikalien waren von analytischer Reinheit. Es wurde sulfatiertes β -Cyclodextrin mit einem Sulfatierungsgrad von 7-11 verwendet. Standardsubstanzen wurden käuflich erworben oder vor Verwendung mit validierten Methoden qualitativ und quantitativ im hauseigenen Labor charakterisiert. Als Standardsubstanzen wurden Coffein, racemisches Ketamin-Hydrochlorid, racemisches Mephedron-Hydrochlorid, racemisches und reines (*S*)-Amphetamin-Sulfat, racemisches und reines (*S*)-Methamphetamin-Hydrochlorid, racemisches und reines (*S*)-MDMA-Hydrochlorid, enantiomerenreines (-)- und (+)-Tramadol-Hydrochlorid, 4-Brom-2,5-dimethoxyphenylethylamin-Hydrochlorid (2C-B) und Lidocain-Hydrochlorid verwendet. Als enantiomerenreines Ketamin-Präparat wurde Ketanest[®] 50 mg/mL von Pfizer Pharma GmbH (New York City, NY, USA) verwendet.

Chirale CE-UV. Alle Experimente wurden mit einem Kapillarelektrophorese-System CE 7100 der Firma Agilent Technologies (Santa Clara, CA, USA) durchgeführt. Die eingesetzte Quarzkapillare mit einer Länge von 48 cm und einem Innendurchmesser von 50 μm wurde bei Polymicro Technologies (Lisle, IL, USA) gekauft. Als Trennpuffer wurden 12,5 mM Kaliumdihydrogenphosphat mit 12,5 mM Phosphorsäure bei einem pH Wert von 2,5 mit einem Gewichtsanteil von 2,5 % sulfatiertem β -Cyclodextrin verwendet. Die Analysen wurden bei 20 °C und einer Detektionswellenlänge von 200 nm durchgeführt. Für die Long-end-Methode wurden eine effektive Kapillarlänge bis zur On-column-Detektionsposition von 39,5 cm und eine angelegte Spannung von -20 kV verwendet, bei der Short-end-Methode eine effektive Kapillarlänge bis zur On-column-Detektionsposition von 8,5 cm bei einer angelegten Spannung von +15 kV.

Chirale HPLC-UV. Alle Experimente wurden an einer Shimadzu UFLC XR (Shimadzu, Columbia, MD, USA) durchgeführt. Als stationäre Phase wurde eine Agilent Poroshell 120 Chiral-V (Santa Clara, CA, USA) mit den Abmessungen 4,6 x 150 mm, 2,7 μm verwendet. Die Enantiomertrennung erfolgte isokratisch mit 15 mM Ammoniumformiat (pH 3,6) / Ethanol (7/93, v/v), Fluss 0,5 mL/min, 30 °C, Messwellenlänge 206 nm.

3. Ergebnisse und Diskussion

3.1 Charakterisierung des Probenpools

Für die durchgeführten Untersuchungen stand ein Probenpool von 317 Ketamin-Proben aus Sicherstellungen von Polizei und Zoll, primär aus den Jahren 2023-2025 aus Deutschland, zur Verfügung. Bei 288 der 317 Proben handelte es sich um reines Ketamin-Hydrochlorid, welches in drei verschiedenen Erscheinungsformen sichergestellt wurde (Abb. 1). Siebzehn der 317 Proben waren Pink cocaine-Zubereitungen, die meist als pinkfarbendes Pulver vorlagen, wobei vereinzelt auch andere Farbvarianten beobachtet wurden (Abb. 1). Zwölf der 317 Proben waren Mischungen aus Ketamin mit einem weiteren Stoff.



Abb. 1. Erscheinungsformen des sichergestellten Ketamin-Hydrochlorids (Pulver, Rocks, Nadeln und Stäbchen) und sichergestellte pulverförmige Pink cocaine-Proben.

3.2 Vergleich der chiralen Analytik mittels CE-UV und HPLC-UV

Ziel der Untersuchungen war die Bestimmung der Enantiomerenverhältnisse von Ketamin in Reinsubstanz und in komplexen Zubereitungen mittels zweier komplementärer chiraler Trenntechniken. Die Ergebnisse der CE- und der HPLC-Analytik werden im Folgenden dargestellt und hinsichtlich methodischer Aspekte und forensischer Aussagekraft diskutiert.

Sowohl mit der chiralen HPLC- als auch mit der chiralen Long-end-CE-Methode konnten die Ketamin-Enantiomere sowie Enantiomere weiterer chiraler Stoffe, die in Pink cocaine-Proben identifiziert wurden, getrennt werden. Abbildung 2 zeigt das Chromatogramm und das Elektropherogramm zu einer von uns komponierten Pink cocaine-Probe aus Ketamin und sieben weiteren verbreitet in Pink cocaine vorkommenden Stoffen. In der CE-Analyse migrierte das Coffein aufgrund seines neutralen Ladungszustandes sehr langsam und wurde im gewählten Zeitfenster nicht detektiert.

Die CE-Methode bietet im Vergleich zur HPLC-Methode eine bessere Trennleistung mit einer höheren Enantiomerenauflösung für alle untersuchten Analyten und dies in einer kürzeren Analysenzeit (17 min vs. 27 min mit HPLC).

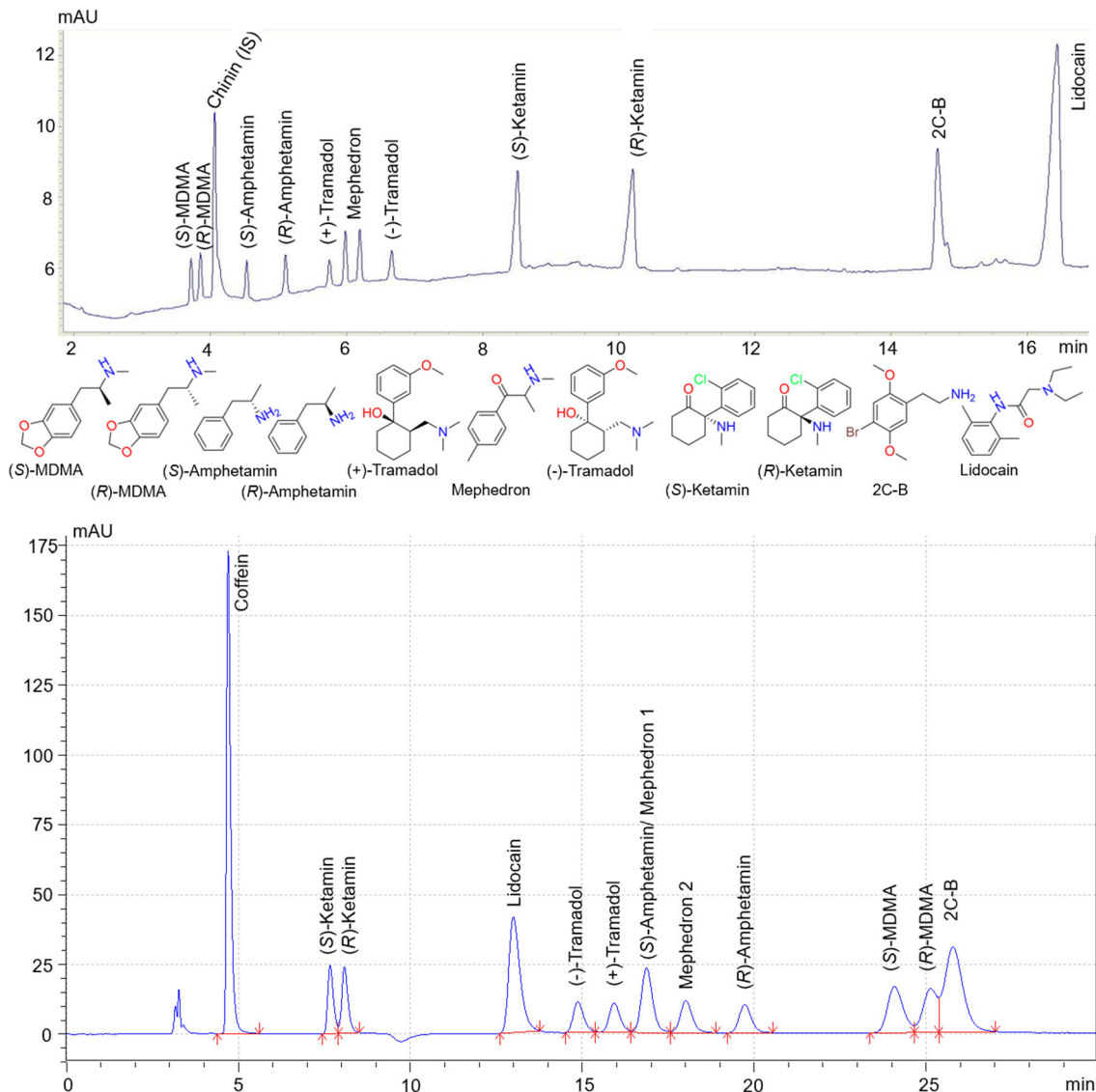


Abb. 2. Oben Long-end-CE-Methode: Elektropherogramm einer künstlich zusammengesetzten Pink cocaine-Probe (je 0,1 mg/mL pro Substanz). Mitte: Analyten der untersuchten Pink cocaine-Probe, Reihenfolge analog zur Migrationsreihenfolge im darüber gezeigten Elektropherogramm. Unten HPLC-Methode: Chromatogramm der untersuchten Pink cocaine-Probe zzgl. Coffein, das in der hier angewandten CE nicht detektiert wurde.

Eine Zusammenstellung der Enantiomerenauflösungen der einzelnen Analyten gibt Tabelle 1.

Tab. 1. Vergleich der Enantiomerenauflösung (R_{Enant} = Verhältnis des Abstandes der Peakmaxima zur durchschnittlichen Peakbreite) mittels CE-UV und HPLC-UV.

Substanz	R_{Enant} (CE-UV)	R_{Enant} (HPLC-UV)
MDMA	2,5	1,2
Amphetamin	8,5	4,7
Tramadol	8,0	1,9
Mephedron	2,5	1,9
Ketamin	10,5	1,3

Zusätzlich war bei der CE- keine Coelution zu beobachten, wohingegen bei der HPLC-Analytik eine Coelution von (*S*)-Amphetamin und einem Mephedron-Enantiomer sowie eine minimale Coelution von (*R*)-MDMA und 2C-B auftraten. Dennoch kann die HPLC-Methode ebenfalls zur qualitativen Detektion aller Analyten eingesetzt werden, da eine Unterscheidung bei Coelution aufgrund der stoffspezifischen UV-Spektren möglich ist (Abb. 3A).

Bei der CE-Analytik wurde Chinin als interner Standard zugesetzt, um durch eine Normierung der Migrationszeiten die relative Standardabweichung (RSD) (10-fach Bestimmung) von 1,9-3,1 % (ohne internen Standard) auf 0,1-1,7 % zu senken. Trotz Normierung wurden weiterhin hohe RSD der Peakflächen für Ketamin von bis zu 51 % beobachtet, sodass die chirale CE-Methode nicht ohne weiteres zu dessen Quantifizierung geeignet ist.

Aufgrund der geringen Unpräzision der HPLC-Analytik mit RSD der Retentionszeiten von 0,04-0,3 % und RSD der Peakflächen von Ketamin von 0,5-0,6 % ist die HPLC-Methode hingegen zur Quantifizierung von Ketamin geeignet. Für die schnelle qualitative Analytik von reinem Ketamin wurde eine zusätzliche CE-Methode, basierend auf einer Short-end-Injektion, entwickelt, bei der die Polarität der Spannung gewechselt und die Probe von der Seite der Kapillare nahe des Detektionsfensters am Kapillarende injiziert wurde. So entstand eine effektive Kapillarlänge von lediglich 8,5 cm bis zum Detektionsfenster und die Ketamin-Enantiomere wurden innerhalb von 4 min mit einer Auflösung von 6,0 getrennt (Abb. 3B).

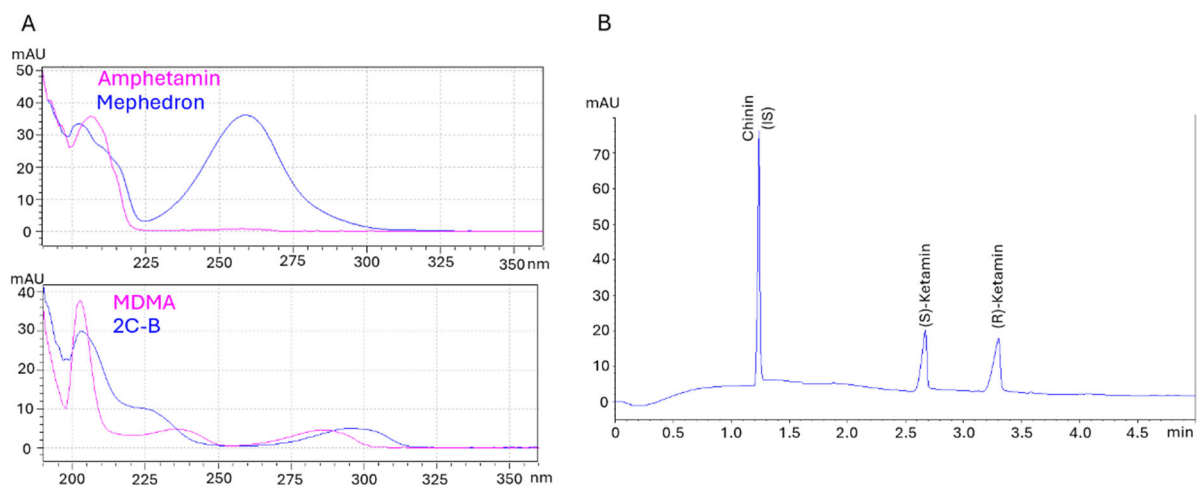


Abb. 3. A: UV-Spektrenvergleich von Amphetamin und Mephedron sowie MDMA und 2C-B im Bereich von 200 bis 360 nm. B: Elektropherogramm von Ketamin (0,1 mg/mL) mittels Short-end-CE-Methode.

Bei der Methodenentwicklung wurden, zusätzlich zur nicht mehr auf dem Markt verfügbaren β -Cyclodextrin-Charge mit einem Sulfatierungsgrad von 7-11, zwei aktuellere Chargen mit einem Sulfatierungsgrad von 12-15 getestet. Beide Chargen zeigten signifikante Unterschiede bei der Enantiomerentrennung, sodass teilweise Coelution und deutlich niedrigere Auflösungen von bspw. 1,7 für Ketamin (vorher 10,5) bei der Long-end-CE-Methode beobachtet wurden.

Aufgrund der geringeren Robustheit der CE-Methoden, vor allem aufgrund der limitierten kommerziellen Verfügbarkeit konstant zusammengesetzter Cyclodextrinchargen und wegen des Vorteils der präzisen Quantifizierung von Ketamin mittels HPLC, wurde der gesamte Probenpool mit chiraler HPLC-Analytik untersucht. Von den 317 untersuchten Proben (reines Ketamin-Hydrochlorid und Pink cocaine-Proben) enthielten 316 racemisches Ketamin und lediglich eine Probe enthielt reines (*S*)-Ketamin. Somit wird deutlich, dass auf dem illegalen Drogenmarkt derzeit nur racemisches Ketamin eine signifikante Rolle spielt.

4. Zusammenfassung

Mit beiden Trennmethoden war eine qualitative chirale Analytik von Ketamin und weiteren in Pink cocaine identifizierten psychoaktiven Stoffen möglich. Die CE-Methoden zeigten jeweils höhere Enantioselektivitäten und insbesondere bei Anwendung der Short-end-Injektion sehr kurze Analysenzeiten von nur vier Minuten. Aufgrund der Chargenabhängigkeit des sulfatierten β -Cyclodextrins und einer erhöhten Peakflächenvariabilität erwiesen sie sich jedoch als weniger robust. Die chirale HPLC zeigte demgegenüber eine höhere Reproduzierbarkeit. Sie ermöglicht somit auch eine valide Quantifizierung von Ketamin.

Von den sichergestellten Proben enthielten 91 % Ketamin als Reinstoff, zumeist in pharmazeutischer Qualität, 4 % waren Ketamin mit einem weiteren Zusatzstoff und Pink cocaine machte 5 % der Sicherstellungen aus. Nur eine Probe enthielt (*S*)-Ketamin in enantiomerenreiner Form, alle übrigen waren racemisch. Dies impliziert, dass (*S*)-Ketamin derzeit keine wesentliche Rolle auf dem illegalen Drogenmarkt zu spielen scheint. Dennoch sollte die chirale Analytik weiterhin als Instrument des Marktmonitorings eingesetzt werden, da die Verfügbarkeit enantiomerenreiner Arzneimittelpräparate zukünftige Marktveränderungen bewirken könnte.

5. Danksagung

Mein besonderer Dank gilt der Gesellschaft für Toxikologische und Forensische Chemie für die Gewährung des Reisestipendiums, welches mir die Teilnahme an der TIAFT Conference 2025 und dort die Präsentation meiner wissenschaftlichen Arbeit ermöglicht hat. Die finanzielle und ideelle Unterstützung durch die GTFCh gab mir die Gelegenheit zu einem internationalen fachlichen Austausch auf hohem wissenschaftlichem Niveau. Für diese Förderung und das damit verbundene Vertrauen möchte ich mich ausdrücklich bedanken.

Die vorliegende Arbeit wird von der Europäischen Union mit Mitteln des Inneren Sicherheitsfonds kofinanziert (ISF-5793-24-0077, Agent K - Analysis of the growing and evolving narcotic threat ketamine).

6. Literatur

- [1] Domino EF, Chodoff P, Corssen G. Pharmacological effects of CI-581, a new dissociative anesthetic, in man. *Clinical Pharmacology and Therapeutics* 1965;6:279-291.
- [2] Das J. Repurposing of Drugs - The Ketamine Story. *Journal of Medicinal Chemistry* 2020;63:13514–13525.
- [3] European Union Drugs Agency. European drug report 2025: Trends and developments; Publications Office: Luxembourg, 2025.
- [4] Palamar JJ, Rutherford C, Keyes KM. Trends in nonmedical ketamine use, poisonings, related deaths, pharmaceutical diversions, and law enforcement seizures: results from annual population-based repeated cross-sectional studies. *Lancet regional health. Americas* 2025;51:101230.
- [5] Meert N, Eliaerts J, Segers K, Wille S. Seized party drugs: New substances, combination mixtures, and polydrug use. *Forensic Science International* 2026;379:112780.
- [6] Barbaro L, Bouchard JL. What Is Pink Cocaine? The Dark Reality behind a Colorful Name. *Journal of Medicinal Chemistry* 2024;67:20733-20736.
- [7] Hempelmann G, Kuhn DF. Klinischer Stellenwert des S-(+)-Ketamin. *Der Anaesthetist* 1997;46 Suppl 1: S3-7.
- [8] Losacker M, Zörntlein S, Schwarze B, Staudt S, Röhrich J, Hess C. Determination of the enantiomeric composition of amphetamine, methamphetamine and 3,4-methylenedioxy-N-methylamphetamine (MDMA) in seized street drug samples from southern Germany. *Drug Testing and Analysis* 2022;14:557-566.
- [9] Dieckmann S, Pütz M, Dahlenburg R. Chiral profiling of illicit methamphetamine samples by capillary electrophoresis. Conference Paper. XIV. GTFCh Symposium 2005.